

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 60-156614
(43)Date of publication of application : 16.08.1985

(51)Int.Cl. A61K 31/35
// C07D311/62

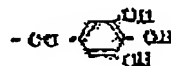
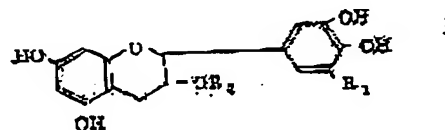
(21)Application number : 59-010980 (71)Applicant : MITSUI NORIN KK
(22)Date of filing : 26.01.1984 (72)Inventor : HARA MASAHIKO
OOYA MAYUMI

(54) INHIBITOR FOR RISE IN CHOLESTEROL

(57)Abstract:

PURPOSE: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin as an active constituent.

CONSTITUTION: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin of formula I (R₁ is H or OH; R₂ is H or formula II) contained in green tea raw leaves or dried green tea of middle grade in an amount of about 10W25% as an active constituent. It is confirmed that the green tea catechin has powerful effect on only inhibition of rise in blood cholesterol but also inhibition of accumulation of lipid, particularly cholesterol, in the kidney. Preferably, the inhibitor is usually administered orally in about 2W5g daily dose.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑩ 日本国特許庁(JP) ⑪ 特許出願公開
 ⑫ 公開特許公報(A) 昭60-156614

⑬ Int. Cl.⁴
 A 61 K 31/35
 // C 07 D 311/62

識別記号 庁内整理番号
 ADN 7330-4C
 6640-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)8月16日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 コレステロール上昇抑制剤

⑯ 特 願 昭59-10980

⑰ 出 願 昭59(1984)1月26日

⑱ 発 明 者 原 征 彦 静岡市駒形通5-11-8
 ⑲ 発 明 者 大 矢 真 弓 静岡市遠藤新田392-10
 ⑳ 出 願 人 三井農林株式会社 東京都中央区日本橋室町2丁目1番地1
 ㉑ 代 理 人 弁理士 久保田 藤郎

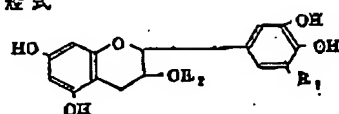
明 細 書

1. 発明の名称

コレステロール上昇抑制剤

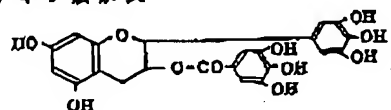
2. 特許請求の範囲

1. 一般式



(式中、B₁はHあるいはOHを、B₂はHあるいは
 $\text{-CO}-\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_2$ を示す。)で置換される茶カテキン
 類を有効成分とするコレステロール上昇抑制剤。

2. 茶カテキン類が式



で置換される(←)エピガロカテキンガレートである
 特許請求の範囲第1項記載のコレステロール上昇
 抑制剤。

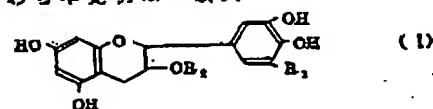
3. 発明の詳細な説明

本発明はコレステロール上昇抑制剤に関する。
 血中および肝臓中における脂質、特に血中コレ
 ステロールの増加による血管老化に伴なつて惹起
 される各種心臓疾患、脳疾患等は近年重大関心事
 となつており、これらの病症を予防する薬剤の出
 現が求められている。

本発明者らは茶カテキン類を製造する方法に関
 し、既に茶葉中より効率よく茶カテキン類を採取
 することに成功し、併せてその生体活性について
 も研究を進め、いくつかの知見を得た。たとえば
 ラードに対する抗酸化性、天然着色料に対する退
 色防止効果、天然精油の劣化防止効果、魚類腐敗
 臭の抑制効果、細菌類に対する静置効果等である。

その後、さらに研究を続けた結果、茶カテキン
 類がすぐれたコレステロール上昇抑制作用を有す
 ることを見出し、本発明を完成するに至つた。

すなわち本発明は一般式




(式中、R₁はHあるいはOH基、R₂はHあるいは
 $\text{-CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}(\text{OH})_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}-$ を示す。)で表わされる系カチオン
 顔を有効成分とするコレステロール上昇調節剤で
 ある。

茶カテキン類とは、一般に茶タンニンと呼ばれているものの主成分であり、生茶葉あるいは煎茶乾物中に10～25%程度含まれ、茶の渋味乃至酸味を形成する成分である。なお、紅茶の場合はこれらカテキン類が酸化重合した形で存在している。

茶カチン類は、本苑明吉らの開花した方法(特
願昭 58-94069 号、同 58-120963 号)によつ
て製造することができ、通常次の 4 種類に分離さ
れる。

(-)エピカチオン(式中、 $R_1 = H$, $R_2 = H$)(以下、 RQ と略す。)

(+)エピカロチキン(式中、 $R_1 = OH$, $R_2 = H$)
(以下、EGCと略す。)

(一) エピカテキナゲレート (式中、 $R_1 = H$ 、 $R_2 = -CO-$
) (以下、 ΣO_g と略す。)

15.0%, コレステロールを1.0%添加した対象群を第1群とし、これに対し、1.0%および2.0%粗カタキンを添加した群を夫々第2群、第3群とする。飼料組成は第1表に示したとおりである。

飼育は、室温 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $45 \sim 55\%$ 、6 時より 18 時まで照明、18 時より 6 時まで消燈の空調動物室で一匹ずつステンレス製懸垂飼育箱に入れ、飼料と水は自由に摂取させて 4 週飼育し、その間の成長、飼料摂取量を調べた。飼料は粉米であり、月皿を有する肉厚ガラス製カゴに入れて与えた。

4週飼育後、12時間断食にし、あらかじめ
人バリン(1000単位/20g)溶液を添加した注射
筒を用いて心腔より採血し、遠心分離(3000rpm
×20min)してプラズマを得た。各検器は重さ
を測定し、肝臓は凍時乾燥後粉末化して実験に供
した。

プラズマ中の成分のうちヘマトクリットは毛細
 管によるミクロヘマトクリット法、ヘモグロビン
 はシアニットヘモグロビン法、グルコースは酵素

特照略 68-156614(2)

(4) エピガロカテキンガレート (式中、 $R_1=OH$ 、 $R_2=-CO-\text{C}_6\text{H}_2(OH)_3$) (以下、 EGG_g と略す。)

これら茶カチキン類のうちでは EGO_3 がほぼ半量
を占める。これら茶カチキン類は水溶性であるが、
予め少量のエチノールに溶解させることによつて
容易に油類等と混合させることができる。

茶カテキン類が血中コレステロールの上昇を抑制するばかりでなく、肝臓中脂質（特にコレステロール）の蓄積を抑制する強い効果を有していることを以下の実験によつて確認した。なお、以下において粗カテキンとは上記4種類の茶カテキン類の混合物を意味する。

实验例 1

1群6匹のwistar系雄乳ラット(3週令、体重約40g)3群を用い、25%カゼインを含む基本飼料を与え3~4日間飼育し、体重55~60gに達したものを1匹ずつステレンレス製器飼育箱に移して実験に供した。

実験群は強制的に血中コレステロールを増加させる為に、ジュークローズおよびラードを各々

法によつて定量した。総コレステロール量は Zak-Hendy 変法により、トリグリセライドおよび Free-HDL-, LDL-コレステロールは酵素法により定量した。

肝臓中脂質は Folch 法により抽出し、肝臓中コレステロールおよびトリグリセライドはアブズマと同様にして定量した。

第 1 规划科组成

成 分	組成 (%)		
	第1群	第2群	第3群
カゼイン	25.0	25.0	25.0
α-ゲニンブ	35.84	34.9	33.9
シユートロース	15.0	15.0	15.0
ラード	15.0	15.0	15.0
コーン油	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1	0.1
コレステロール	1.0	1.0	1.0
カフェイン	0.06	—	—
粗カテキ	—	1.0	2.0

特開昭69-156614(3)

4週間を通じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第2表に、肝臓中成分の測定結果を第3表に示す。

第2表

	第1群	第2群	第3群
ヘマトクリント(%)	44.0±1.0	45.0±0.8	45.4±0.5
グルコース(mg/dl)	155.6±9.9	174.0±10.6	145.2±4.1
総コレステロール(mg/dl)	141.7±6.5 ^{a)}	111.7±3.5 ^{b)}	109.9±6.0 ^{b)}
Free-コレステロール(mg/dl)	26.15±2.51 ^{a)}	20.82±1.38 ^{a)}	21.48±1.78 ^{b)}
総コレステロール/Free-コレステロール(mg/dl)	115.5±7.8 ^{a)}	90.87±4.06 ^{b)}	88.42±4.84 ^{b)}
HDL-コレステロール(mg/dl)	46.83±7.72 ^{a)}	47.06±1.24 ^{a)}	49.02±4.58 ^{a)}
LDL-コレステロール(mg/dl)	78.50±4.85 ^{a)}	54.76±3.21 ^{b)}	50.89±3.19 ^{b)}

c), d) は $p = 0.05$ における有意差表示

肝臓中の総脂質の割合は、解剖時重量に換算して対象群が22.5%と非常に高いのに対し、粗カチオン添加によつて14.9%, 10.4%と顕著に低くなっている。トリグリセリド、コレステロール量においても粗カチオン添加によつて対象群に比べて著しく低下した。

実験例2

1群6匹のWistar系雄乳ラット(3週令体重約40g)48匹を用い、実験例1と同様な条件下で4週間飼育し、実験に供した。

実験群は25%カゼインを含む基本飼料を与える基本食群を第1群とし、強制的に血中コレステロールを増加させる為にノースクロースおよびラードを各々15.0%, コレステロール1.0%、さらにNaコレート0.2%添加した対象群を第2群とする。対象群に対し、EGUGを0.5%および1.0%添加した群を第3群、第4群とする。飼料組成は第4表に示す。

第3表

	第1群	第2群	第3群
総脂質(%)	22.50±1.16 ^{a)}	14.94±0.62 ^{b)}	10.38±0.21 ^{c)}
総トリグリセリド(mg)	764±54 ^{a)}	562±33 ^{b)}	266±20 ^{c)}
トリグリセリド(mg/肝臓)	77.6±4.6 ^{a)}	59.8±3.8 ^{b)}	33.3±1.3 ^{c)}
総コレステロール(mg)	288±19 ^{a)}	213±17 ^{b)}	149±21 ^{c)}
コレステロール(mg/肝臓)	28.6±1.1 ^{a)}	22.6±1.7 ^{b)}	18.4±1.9 ^{b)}

a), b), c) は $p = 0.05$ における有意差表示

プラズマにおいて、ヘマトクリント、グルコース値は3群とも正常値を示した。総コレステロール量は、対象群に対して粗カチオンを1.0%, 2.0%添加することによつてコレステロール上昇が抑制されていることがわかる。また、コレステロールの存在形態においては、Free-およびHDL-コレステロール量に差はなく、体内へのコレステロール蓄積に最も関与していると思われるLDL-コレステロール量が対象群では多いが、粗カチオン添加によつて著しく抑制されている。

第4表飼料組成

成分	第1群	第2群	第3群	第4群
カゼイン	25.0	25.0	25.0	25.0
デンプン	63.9	35.7	35.2	34.7
サクロース	—	15.0	15.0	15.0
ラード	—	15.0	15.0	15.0
コーン油	5.0	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0	1.0
増化コリン	0.1	0.1	0.1	0.1
コレステロール	—	1.0	1.0	1.0
Naコレート	—	0.2	0.2	0.2
粗カチオン	—	—	—	—
EGUG	—	—	0.5	1.0

4週間を通じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第5表に、肝臓中成分の測定結果を第6表に示す。

特開昭60-156614(4)

第5表

	第1群	第2群	第3群	第4群
ヘマトクリット(%)	465±16	446±10	439±08	427±06
ヘモグロビン(g/dl)	146.5±0.19	132.3±0.10	134.7±0.14	122.4±0.18
グルコース(mg/dl)	178.6±3.6	178.5±7.3	182.7±7.3	185.6±5.3
総コレステロール(mg/dl)	933.8±48.9	223.7±14.3	142.8±4.3	114.3±8.6
Free-コレステロール(mg/dl)	26.8±1.29	36.7±1.72	28.2±1.47	22.5±1.29
総コレステロール- Free-コレステロール (mg/dl)	685.8±37.3	184.0±1.32	114.6±4.2	91.7±7.50
HDL-コレステロール (mg/dl)	53.46±2.34	21.56±1.45	31.06±1.45	29.70±1.07
LDL-コレステロール (mg/dl)	113.0±0.81	163.8±1.05	83.27±4.60	53.94±4.83
トリグリセライド(mg/dl)	162.7±7.1	92.08±8.01	74.12±5.05	71.89±8.87

a), b), c), d)は $p=0.05$ における有意差を示す

第6表

	第1群	第2群	第3群	第4群
体重(g)	520±0.13	329.5±0.69	287.9±0.81	239.9±0.57
トリグリセライド(mg)	880±5.4	192.9±4.9	164.1±8.8	104.6±7.7
トリグリセライド(mg/dl)	117±0.6	161±3	128±3	98.4±8.6
総コレステロール(mg)	382±1.5	131.8±8.1	107.2±3.0	81.5
コレステロール (mg/dl)	483±0.11	106±3	84.3±2.2	71.4

a), b), c), d)は $p=0.05$ における有意差を示す

プラズマにおいて、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルコースは各群とも正常値を示した。総コレステロール量は、基本食群が933.8 mg/dlであったのに対し、対象群は223.7 mg/dlと増大しているが、0.5%、1.0% EGCg添加によつて143 mg/dl、114 mg/dlとコレステロールの増加を抑制した。特に1.0% EGCgを添加した第4群は基本食群と若くは差はなく、強制的にコレステロール値を上昇させる食餌の形態を完全に抑制した。コレステロールの存在形態も、基本食群に対し対象群はHDL-コレステロールが少なく、LDL-コレステロールが多いが、これに対し第3群、第4群ではHDL-コレステロールが多くなりLDL-コレステロールが少なくなった。

肝臓中の総脂質の割合は、肝部時数値に換算して基本群5.2%に対し対象群は33.0%と極めて増大したが、0.5%、1.0% EGCg添加によつて28.7%、24.0%と著しく減少した。トリグリセライド、コレステロール量においても、EGCg添加によつて対象群に比べて増加を抑制した。

尚、実験例1、2を通じて第4週目の血中脂質量をFoscd法により測定したところ、いずれも対象群に比べ粗カチオンあるいはEGCg添加群の方が大きな値を示した。

実験例3

1群6匹のWistar系雄乳ラット(3週令体重約40g)2群を用い、実験例1と同様な条件下で4週間飼育し、実験に供した。

実験例1、2を通じて血中および肝臓中の脂質、特にコレステロールを強制的に増加させる飼料を与えても、粗カチオン、EGCgの添加によつてその増加を抑制することがわかった。しかし、コレステロールは細胞膜構成成分、各種ホルモン前駆物質として重要であり、正常値に保つ必要がある。そこで、今回の実験ではEGCgはコレステロール強制添加食に添加した時にはコレステロール値を下げるが、基本食に添加した時には影響しないことを確かめる。

従つて、実験群は2.5%カゼインを含む基本飼料を与える基本食群を第1群とし、これに対して

特開昭60-156614(5)

1.0 g BGOg添加した群を第2群とする。飼料組成は第7表に示す。

第7表

成分	組成 (%)	
	第1群	第2群
カゼイン	25.0	25.0
α -デンプン	63.9	62.9
コーン油	5.0	5.0
塩混合	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1
BGOg	—	1.0

2週間を通じて2群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第8表に、肝臓中成分の測定結果を第9表に示す。



第8表

	第1群	第2群
ヘマトクリット(%)	45.2±0.7 ^{a)}	44.4±0.5 ^{a)}
ヘモグロビン(g/dl)	140.7±0.12 ^{a)}	138.3±0.28 ^{a)}
グルコース(mg/dl)	166±5 ^{a)}	170±1 ^{a)}
総コレステロール(mg/dl)	95.1±4.1 ^{a)}	103.5±5.3 ^{a)}
Free-コレステロール(mg/dl)	30.2±1.7 ^{a)}	31.5±1.4 ^{a)}
総コレステロール-Free-コレステロール(mg/dl)	64.9±2.5 ^{a)}	72.0±4.2 ^{a)}
HDL-コレステロール(mg/dl)	55.6±2.9 ^{a)}	51.7±2.1 ^{a)}
LDL-コレステロール(mg/dl)	14.2±1.8 ^{a)}	17.2±1.4 ^{a)}
トリグリセライド(mg/dl)	164±22 ^{a)}	165±23 ^{a)}

a) は $p=0.05$ における有意差表示

第9表

	第1群	第2群
総脂質(%)	53.5±0.19 ^{a)}	45.8±0.05 ^{a)}
総トリグリセライド(mg)	91.6±8.7 ^{a)}	72.7±4.0 ^{a)}
トリグリセライド(mg/100g)	11.7±1.0 ^{a)}	8.9±0.6 ^{a)}
総コレステロール(mg)	35.4±1.4 ^{a)}	36.3±1.2 ^{a)}
コレステロール(mg/100g)	4.55±0.15 ^{a)}	4.36±0.07 ^{a)}

a) は $p=0.05$ における有意差表示

プラズマにおいて、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルコースは2群とも正常値を示した。総コレステロール量も基本食群が95 mg/dl、第2群が103 mg/dlと有意な差は見られず、その他の成分でも差は見られなかつた。

肝臓中の総脂質の割合は、解剖時重量に換算して基本食群(第1群)5.4%に対し、第2群も4.6%と有意な差はなく、コレステロール、トリグリセライドにおいても差はなかつた。

以上の実験例1, 2および3によつて、素カタキャン類(特にBGOg)はラットに脂質、特にコレステロールを強制的に増加させる飼料を与えた時、血中および肝臓中の脂質、特にコレステロールの増加を顕著に抑制することがわかつた。さらに、基本食を与えた時には、血中および肝臓中の体成分として取扱いコレステロールに影響を与えないことも明らかとなつた。

急性毒性試験の結果を以下に示す。

ICR系マウス雄5週令にBGOgを経口投与した場合、1週間後のLD₅₀は2314 mg/kgであつた。さら

に、ICR系マウス雄5週令にBGOgを腹腔投与した場合、1週間後のLD₅₀は150 mg/kgであつた。

本発明のコレステロール上昇抑制剤を人体に投与する場合は、通常1日毎2~5g程度を経口的に服用することが好ましく、そのままあるいは適宜希釈剤を加えて増量し散剤として服用してもよい。さらに、錠剤またはカプセル剤としてもよい。即ち乳糖、ぶどう糖等の賦形剤；でんぷん糊、CMC液等の結合剤；でんぷん、結晶セルロース等の崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤等を用いて錠剤またはカプセル剤を製造することができる。また、錠剤には必要に応じて包衣を施してもよい。

以下に製剤を実施例として示すが、発明はこれのみに限定されるものではない。

実施例 錠剤

粗カタキャンまたはBGOg	100mg
軽質無水ケイ酸	80mg
結晶セルロース	140mg
乳糖	適量

特開昭50-156614(6)

ステアリン酸マグネシウム 2頁

上記組成物を宿法に従い1錠に成型する

特許出願人 三井物産株式会社

代理人 弁護士 久保田 藤 郎

